

534,104

Rec'd PCT/PTO 06 MAY 2005

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004年5月21日 (21.05.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/041992 A1

(51) 国際特許分類: C12C 7/04, C12G 3/02

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/014210

(22) 国際出願日: 2003年11月7日 (07.11.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2002-324556 2002年11月7日 (07.11.2002) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): サントリー株式会社 (SUNTORY LIMITED) [JP/JP]; 〒530-8203 大阪府 大阪市 北区 堂島浜2丁目1番40号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 西田 有志 (NISHIDA, Yuji) [JP/JP]; 〒567-0806 大阪府 茨木市 庄2-19-13-606 Osaka (JP). 丸橋 太一 (MARUHASHI, Taichi) [JP/JP]; 〒374-0057 群馬県 館

林市 北成島町1830-1-208 Gunma (JP). 藤田 広樹 (FUJITA, Hiroki) [JP/JP]; 〒214-0011 神奈川県 川崎市 多摩区 布田2-5-401 Kanagawa (JP). 福井 宣之 (FUKUI, Nobuyuki) [JP/JP]; 〒618-0014 大阪府 三島郡 島本町 水無瀬2-8 Osaka (JP).

(74) 代理人: 社本 一夫, 外 (SHAMOTO, Ichio et al.); 〒100-0004 東京都 千代田区 大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AU, CA, CN, JP, KR, US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: PROCESS FOR PRODUCING FERMENTED DRINK

(54) 発明の名称: 発酵飲料の製造方法

(57) Abstract: It is a common problem in producing fermented drinks to prevent or regulate off-flavor (unpleasant smell) generated in the course of fermentation using yeasts. Thus, it is intended to provide a process for producing a fermented drink having a favorable taste with lessened off-flavor wherein a low alcoholic drink is produced by the fermentation stopping method. By controlling the L-methionine concentration and the free amino nitrogen (FAN) level of a sugar solution, it becomes possible to produce a fermented drink having a lowered hydrogen sulfide concentration and T-VDK concentration and showing relieved off-flavor, i.e., sulfur smell and diacetyl smell.

(57) 要約: 酵母を用いた発酵工程で生じるオフフレーバー (不快臭) の防止、抑制することはこれら飲料にとって共通の課題である。本発明は、発酵停止法による低アルコール飲料に関し、オフフレーバーの低減した香味に優れた発酵飲料の製造方法を提供する。糖液のL-メチオニン濃度および遊離アミノ態窒素量 (FAN量) を調整することで、硫化水素濃度やT-VDK濃度を低減し、オフフレーバーであるサルファー臭、ダイアセチル臭の少ない発酵飲料を製造することができる。

WO 2004/041992 A1

明細書
発酵飲料の製造方法

技術分野

- 5 本発明は、発酵飲料の製造方法に関する。より詳しくは酵母を用いた発酵の途中で発酵を停止する工程を経る発酵飲料の製造方法において、糖液のL-メチオニン濃度またはFAN量を調整して、オフフレーバーであるサルファー臭およびダイアセチル臭の発生を抑制した発酵飲料の製造方法に関する。

10 背景技術

酒類のうち酵母を用いた発酵工程を経るものは発酵飲料と呼ばれ、ワイン等の果実酒、ビールや発泡酒等の麦芽発酵飲料、清酒などが含まれる。これら発酵飲料は原料や製法によって区別されるが、酵母を用いた発酵の工程を経るという共通点がある。酵母を用いた発酵工程で生じるオフフレーバー（不快臭）の防止、抑制

15 制することはこれら飲料にとって共通の課題である。

- オフフレーバーの種類は各種知られており、その解決手段も様々に検討されている。例えば、特開平 58-155075 ではマストワインにおけるマスト臭を酵母エキス等の添加によって抑制することが記載されている。特開平 7-303457 ではビールにおける硫化水素の生成を構造遺伝子を導入した酵母を用いて抑制している。また、
- 20 発泡酒の香味に影響を与えるリンゴ酸およびコハク酸の量を、特開平 10-57044 では発酵温度や酵母添加量を調整することで、また、特開平 10-52251 では、蛋白休止時間を所定の時間範囲で変化させて麦汁中の遊離アミノ態窒素の生成量を制御することによって制御することが記載されている。また特開昭 61-58573 では、酒類を急速製造する際に生じるダイアセチル類について、二段階の発酵のうちの
- 25 二段階目の発酵を酵母の多入を避けた状態で行うことで低下させている。

このように、酵母を用いた発酵工程で生じるオフフレーバーを抑制することは発酵飲料にとって共通の課題であるが、飲料の酒類、用いる原料、または製造方法ごとに、留意すべきオフフレーバーの種類は異なる。

さて、近年の低アルコール商品の市場の拡大に伴い、果実酒、清酒および麦芽

発酵飲料それぞれについて、様々な低アルコールの発酵飲料が製品化されている。ビール、発泡酒といった麦芽発酵飲料においても、低アルコールの製品が製造されている。なかでも、酒税法上、酒類に該当しない、アルコール1%未満の麦芽発酵飲料は、低アルコールビール（低アルコール発泡飲料）またはノンアルコールビールと称され、その市場は増加傾向にある。

低アルコールビールの製造方法には、(1) ビールよりアルコールを除去する方法（逆浸透膜法、蒸留法）、(2) 特殊な酵母や微生物を用いる方法、(3) 発酵の途中で発酵を止める方法が知られている（Beers & Coolers, edited by M. Moll, Intercept Ltd）。

10 このうち、(1) の逆浸透膜法はアルコール以外のフレーバーも取り除かれることがあり、また現行ビール工場において各々の脱アルコール設備を導入する必要があり、新たな設備投資費用が膨大に生じ、容易には導入は難しい。また、蒸留法では加熱によるオフフレーバーが生じることがある。(2) の方法には麦汁の主要糖であるマルトースを発酵できない酵母（*Saccharomycoides Ludwigii* 種）を用いた方法（M. W. Brenner, Technical Quarterly, Master Brewers Association of
15 the Americans, 17, 1980, 185-195）が報告されているが、ビール酵母でない特有のフレーバーを生じ、品質の高い低アルコールビールを製造できるとは言い難い。

一方、(3) の発酵途中で発酵を止める方法は、ビール工場の設備をそのまま用
20 いることが可能であり、新たな設備投資を抑制できるメリットがある。この方法については、通常発酵において発酵が進行する前に冷却して発酵を止める方法が報告されている（Abriss der Bierbrauerei, edited by Ludwig Narziss, Ferdinand Enke Verlag）。また、特開平5-68528では仕込工程において、 α -グルコシダーゼを添加して、糖化液中の発酵性糖類を非発酵性糖類に変換する
25 方法が示されている。しかしながら、これらでは、オフフレーバーの生成の抑制に関して十分に検討がなされているとはいえない。

別に、(4) 麦汁と酵母とを短時間接触させる方法（F. Schur, European Brewery Convention, Proceeding of the 19th Congress, 1983）や、(5) 通常のビールと低エキス濃度の麦汁で作られたもろみを混合する方法、（G. W. Barrel, UK

patent 2033424, 1980) などが提案されているが、いずれも麦汁臭が残るという課題があるほか、(5) では日本においては酒税法上の製造許可の得られにくいという問題もある。

また、発酵飲料を発酵停止法で製造する際のオフフレーバーの軽減については、
5 例えば、特開 2002-291465 では低アルコール濃度の清酒におけるダイアセチル臭を変異酵母を用いることで制御した製造方法が示されている。

しかしながら、発酵飲料を、設備投資の不要な発酵停止方法で製造する方法について、オフフレーバーを抑制し香味にすぐれた製品を得る方法については、今だ十分な検討が行われていない。

10

発明の開示

本発明は、発酵停止法による発酵飲料の製造、特に低アルコール麦芽発酵飲料の製造で問題となるオフフレーバーの生成を抑え、香りの点ですぐれた麦芽発酵飲料を製造する方法を提供することである。

15 発明者らは上記課題を解決するために発酵停止法における発酵飲料中のオフフレーバーの種類・閾値、生成メカニズムの解析を進め、さらに発酵停止法において、糖液あるいはもろみに含まれる成分がオフフレーバーの生成に与える影響等について鋭意検討した。

その結果、ビールの製造のように発酵を終点まで行う場合には消失するオフ
20 レーバーのうち、サルファー臭およびダイアセチル臭は、発酵を途中で停止される製造方法では閾値以上に発生しており、この 2 種の発生を抑制すれば、発酵停止法によっても香りの面で好ましい発酵飲料が得られることを見出した。そのため、糖液あるいはもろみの L-メチオニン濃度を調整することでサルファー臭の生成を低減できることを、および、ダイアセチル臭については、糖液あるいは
25 もろみの遊離アミノ態窒素量 (FAN 量) を調整することで低減できることを見出した。ここで、遊離アミノ態窒素量 (FAN 量) とは、遊離の α -アミノ基の総量に当たる量である。

これまで、サルファー臭については、炭酸ガスバブリングにより低減できることが知られているが、この方法は新たな設備投資が必要となり、費用として大き

な投資が生じる。また、ダイアセチル臭については、低温、加圧条件下で酵母を増殖させないことで生成を抑制することが知られているが、この方法で製造した麦芽飲料では麦汁臭が残りやすい。

5 本発明の製造法によってえられる発酵飲料は、サルファー臭やダイアセチル臭といったオフフレーバーが抑制され、香りに優れるという特徴をもち、しかもビールと共通の設備によって得られるという長所をもつ。

図面の簡単な説明

図 1 は、下面発酵酵母を用いた発酵中の硫化水素濃度の推移を示す。

10 図 2 は、上面発酵酵母の各菌株を用いた発酵中の硫化水素濃度の推移を示す。

図 3 は、L-メチオニン濃度 (0.09mM) の糖液を用いたもろみの L-メチオニンおよび硫化水素濃度の推移を示す。

図 4 は、L-メチオニン濃度 (0.14mM) の糖液を用いたもろみの L-メチオニンおよび硫化水素濃度の推移を示す。

15 図 5 は、L-メチオニン濃度 (0.19mM) の糖液を用いたもろみの L-メチオニンおよび硫化水素濃度の推移を示す。

図 6 は、L-メチオニン濃度 (5mM) の糖液を用いたもろみの硫化水素濃度の推移を示す。

20 図 7 は、酵母 SH-1726 を用いて各種 FAN 量の糖液で発酵させた場合のもろみの L-バリン濃度の推移を示す。

発明を実施するための最良の形態

以下に本発明を詳細に説明する。

25 本発明でいう発酵飲料は発酵工程を経て製造される飲料を指す。麦芽および大麦、米、とうもろこしなどの穀物類を糖化させて得た糖液に、酵母を添加し発酵させる工程を経る。例えば、ビール、発泡酒、低アルコール麦芽発酵飲料や、糖液の原料に麦芽を用いないビールテイスト飲料などが挙げられる。

本発明でいう麦芽発酵飲料は麦芽を発酵させる工程を経て製造される飲料を指す。麦芽のほか、大麦、米、とうもろこしなどの穀物類を糖化させて得た糖液に、

酵母を添加し発酵させる工程を経る。例えば、ビール、発泡酒、低アルコール麦芽発酵飲料などが挙げられる。

本発明でいう糖液とは、発酵工程に賦する前の液体をいう。すなわち、上述の、麦芽および大麦、米、とうもろこしなどの穀物類を糖化させて得た糖液に、更に、
5 必要により、糖化スターチや水などの原料を適宜加えたものをいう。また、本発明でいう、もろみとは糖液に酵母を添加した液体をいう。

本発明でいう発酵停止法とは、発酵工程において、酵母が資化可能な糖類を残した状態で、発酵を停止する方法のことである。発酵を停止する方法としては、酵母を除去する方法や、もろみを急速冷却する方法などがある。いずれの発酵飲料にも適用することができる。
10

本発明は酵母における発酵を途中で停止した場合に留意すべきオフフレーバーの生成を低減することができる。従って、本発明は発酵飲料のうち、発酵停止法によって得られる飲料について有用な技術である。

発酵飲料のうち、原料に麦芽等を用いるものは麦芽発酵飲料と呼ばれ、ビールや発泡酒が含まれる。なお、日本の酒税法上、麦芽発酵飲料の中で、酒類に分類されるのはアルコール含量1%以上の飲料であり、アルコール含量1%未満の麦芽発酵飲料は酒類に該当しない。本発明でいう低アルコールビールとは、アルコール含量1%未満の麦芽発酵飲料のことをいう。好ましくは、アルコール含量0.1%~1%未満である。低アルコールビールは、ノンアルコールビールあるいは
15
20 アルコールフリービールなどと称される。

本発明の製造方法は、発酵停止法による各種アルコール濃度の発酵飲料または麦芽発酵飲料に用いることができるが、特に、穀物原料から糖液を調製する発酵飲料に好適に用いることができる。中でも、麦芽を用いる麦芽発酵飲料に好適に用いることができる。あるいは、糖液の原料に麦芽を用いないビールテイスト飲料についても同様に用いることができる。
25

飲料のアルコール濃度は特に限定されないが、酵母のアルコール耐性を考慮すると、20%以下の麦芽発酵飲料に用いることができる。また、麦芽発酵飲料の場合、アルコール濃度は2%以下であることが望ましい。なかでもアルコール濃度1%以下の低アルコールの麦芽発酵飲料の製造に好適に用いることができる。

本発明におけるオフフレーバーとは、発酵飲料における好ましくない香りのことをいう。不快臭、未熟臭、または異臭などと称される。発酵飲料におけるオフフレーバーには、発酵飲料の種類や製造方法によって様々あり、例えば、有機酸由来の臭いや、各種エステル臭、サルファー臭やダイアセチル臭が挙げられる。発酵飲料の製造で問題とすべきオフフレーバーは、飲料の種類や製造方法によって異なる。

例えば、麦芽発酵飲料では、ビールの製造のように発酵を終点まで行う場合には消失するオフフレーバーのうち、サルファー臭およびダイアセチル臭は、発酵を途中で停止される製造方法では閾値以上に発生していることが判明した。

発酵飲料中のサルファー臭の本体は硫化水素であり、飲料中の硫化水素の濃度は 3 p p b 以下にすることが望ましい。

発酵中に発生する硫化水素は、酵母の含硫アミノ酸（L-メチオニンなど）生成における代謝と密接に関係していることが知られている（日本生化学学会編 代謝マップ 東京化学同人, 143）。主としてもろみ中の硫酸イオンが酵母の硫黄源として細胞内に取込まれて S^{2-} に還元される。その一部は細胞外に硫化水素として放出されるが、酵母の出芽により細胞内に取込まれ L-システインや L-メチオニンの含硫アミノ酸の合成に用いられったり、亜硫酸として細胞外に放出される。

従って、発酵の間、もろみに含まれる L-メチオニンが枯渇しないように制御することによって、上述の硫化水素の生成する代謝を機能させないことが可能である。

すなわち、本発明においては、発酵工程の間、もろみ中の L-メチオニンの濃度を L-メチオニン生合成系が抑制される濃度に調整することが肝要である。そのためには、発酵工程の間、L-メチオニンをもろみに随時補充しても良いが、糖液で L-メチオニンの濃度を調整してもよい。後者の場合、発酵を停止するまで、L-メチオニンの不足によって酵母の L-メチオニン生合成系が働く濃度よりも高い濃度に L-メチオニン濃度になるように糖液を調製すればよい。糖液の L-メチオニンの濃度を制御する場合、L-メチオニンの濃度は、酵母の活動の程度、すなわち、目標とするアルコール濃度によって異なる。例えば、低アルコールビールの場合、アルコール濃度 1% 未満で発酵を停止させるが、アルコール濃度が 1% に近い製品

を製造するには、糖液での L-メチオニン濃度は 0.14mM 以上であることが好ましい。これに比べてアルコール濃度が更に低く、例えば 0.5% 以下の飲料では、糖液の L-メチオニンの濃度は若干低くてもよいが、少なくとも 0.09mM 以上であることが望ましい。糖液の L-メチオニンの濃度を制御する場合の L-メチオニンの濃度の上限は、発酵工程に悪い影響を及ぼさない濃度であれば特に限定されないが、コストや、製品の香味への影響を考慮すると、例えば、5mM 以下、より好ましくは 1mM 以下が望ましい。

発酵飲料中のダイアセチル臭は代表的な不快な臭いであり、ビールにおいては未熟臭と称されている。ダイアセチル臭の本体は、ダイアセチル及び 2,3-ペンタンジオンであり、ビールにおける官能閾値はそれぞれ約 0.1ppm、1 ppm と言われている。これらの物質は酵母のアミノ酸生成（L-イソロイシン、L-バリン、L-ロイシン）の中間代謝物であり、発酵中に生成されたダイアセチル、2,3-ペンタンジオンは速やかに酵母に取込まれ、もろみにはほとんど存在しない。従ってもろみに両物質はほとんど存在せず、その前駆体である α -アセト乳酸、 α -アセト- α -ヒドロキシ酪酸がもろみに存在している。その前駆体が濾過以降のビール中に存在すると、酸化的脱炭酸により、ダイアセチル及び 2,3-ペンタンジオンに変化する。そのためダイアセチル及び 2,3-ペンタンジオンの抑制については前駆体も含めて考えることが必要であり、これら 4 種の化合物を一括して全ピシナル-ジケトン(T-VDK)と定義されているが発酵飲料中の許容量としては、0.1ppm 未満にすることが望まれている。

T-VDK の生成量は酵母がもろみの L-バリンを取り込んでいる間は少ない。L-バリンの取り込み量は L-イソロイシンなど他のアミノ酸の存在によって影響を受けることが知られている (K Nakatani, Technical Quarterly, Master Brewers Association of the Americans, 21, 1984, 73 175)。そこで、発明者らは、糖液またはもろみの遊離アミノ態窒素量 (FAN 量) を制御することによって、酵母の L-バリンの生合成を抑制し、以って T-VDK の生成量を抑制することとした。

遊離の α -アミノ基の総量にあたる FAN 量は、酵母の L-バリンの取込に影響を与える。すなわち、FAN 量が少ないと L-バリン自体の枯渇につながり、FAN 量が多いと、豊富にある他のアミノ酸が優先的に取込まれ L-バリンの取込は阻害さ

れる。従って、本発明において、L-バリンの不足による酵母のL-バリン生合成系が働くことなく、且つ、L-バリンの酵母への取込が阻害されないように、糖液およびもろみでのFAN量を調製することが肝要である。

糖液のFAN量を制御する場合、飲料中のFAN量は2.5~20mg/100ml、より好ましくは5~20mg/100mlであるが、目標とするアルコール濃度によって調整すれば良い。例えば、低アルコールビールの場合、アルコール濃度1%未満、但し、好ましくは1%近くで発酵を停止させることから、糖液でのFAN量は、10mg/100ml~20mg/100mlであることが好ましい。

糖液のFAN量を制御する方法としては、麦芽等の穀物由来の原料の種類または使用量を調整することで調整できる。例えば、麦芽中には各種アミノ酸が含まれ、麦芽の使用量が多いとFAN量は増加する。逆に、副原料である糖化スターチや水の使用量が多い場合、FAN量は低下する。

また、仕込のマッシング工程でのタンパク質の分解の程度によっても調整することができる。仕込のマッシング工程でタンパク質の分解は、pH、温度または時間などを調整することで達成できる。例えば、タンパク質の分解が促進される温度範囲は45~60℃であり、約80℃で失活する。特に、45~50℃では、低分子の窒素化合物（FAN量）が増加する。また、タンパク質の分解量は反応させる時間にも依存する。更に、pHも蛋白分解に対して影響するマッシング工程をpH5~6で行うことでタンパク質の分解が促進する、そのため、各種の酸を添加するなどして、pHを調整することができる。

一方、もろみのL-バリン濃度は、L-バリンの不足による酵母のL-バリン生合成系が働くことのないように調整すればよい。例えば、0.1~10mMであるが、コストや、製品の香味への影響を考慮すると、0.2~2mMが望ましい。もろみのバリン濃度は、麦芽等の穀物由来の原料の種類または使用量を調整することで調整できる。また、糖液またはもろみにL-バリンを添加することでも調整することができる。

本発明で用いる酵母は、製品の種類、目的とする香味や発酵条件などを考慮して自由に選択できる。ただし、本発明の課題であるサルファー臭やダイアセチル臭を極端に生じやすい酵母は避けるべきである。その点で、硫酸イオンの取り込

み能の低い酵母は硫化水素の生成量もすくないと考えられ、好適にもちいることができる。ビールなどの麦芽発酵飲料に用いられる酵母のうち、*Saccharomyces cerevisiae* 種の酵母は、発酵中の炭酸ガス発生によって生ずる泡とともに液表に浮かび、ある期間後に器底に沈下するという性質を有することから、上面発酵酵母と呼ばれる。一方、*Saccharomyces pastriunus* 種（または *Saccharomyces carlsbergensis* 種と言う）の酵母は、発酵中に液表に浮かばずに発酵し、発酵終了後に沈下する性質を持つことから、下面発酵酵母と称される。

本発明において、下面発酵酵母より上面発酵酵母の方が、硫化水素の生成量は少ない傾向にあることから上面発酵酵母を好適に用いることができる。なかでも、硫化水素の生成量が少ない性質を有する酵母や、T-VDKの生成量の少ない性質を有する酵母を好適に用いることができ、例えば、NCYC-229 (NATIONAL COLLECTION OF YEAST CULTURES より購入)、NCYC-401 (NATIONAL COLLECTION OF YEAST CULTURES より購入)、Weihenstephan-184 (Fachhochschule Weihenstephan より購入)、SH-387 (国際寄託番号 FERM BP-08541)、SH-1059 (国際寄託番号 FERM BP-08542)、SH-1726 (国際寄託番号 FERM BP-08543) など *Saccharomyces cerevisiae* の上面発酵酵母を好適に用いることができる。

発酵を停止して得られたもろみについて、常法に従がって、着色料、酸化防止剤、酸味剤、香料などを必要により添加する。また、必要により、逆浸透膜法や、水等で希釈によって、アルコール濃度や香味を調整することができる。このようにして得られた麦芽発酵飲料は瓶や缶などの容器に充填することができる。

实施例

以下、本発明について、実施例により具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

実施例1 上面発酵酵母を用いることによる硫化水素生成の低減

上面発酵酵母、及び下面発酵酵母を用いることによる硫化水素生成に与える影響を検討した。

麦汁製造時に原料である麦芽と糖化スターチの使用比率を 60:40 として、パイロットスケールの醸造設備を用い、仕込のマッシング工程を 50℃-30 分、72℃-60 分のマッシング条件とし、糖度 10%の麦汁を調製した。 それぞれに生菌数 10

×10⁶cells/ml になるように各菌株の酵母を添加した。上面発酵酵母の菌株として、NCYC-229 (NATIONAL COLLECTION OF YEAST CULTURES より購入)、NCYC-401 (NATIONAL COLLECTION OF YEAST CULTURES より購入)、Weihenstephan-184 (Fachhochschule Weihenstephan より購入)、SH-387 (国際寄託番号 FERM BP-08541)、SH-1059 (国際寄託番号 FERM BP-08542)、SH-1726 (国際寄託番号 FERM BP-08543) を使用した。下面発酵酵母として Weihenstephan-34 (Fachhochschule Weihenstephan より購入) を使用した。

下面発酵酵母の Weihenstephan-34 (図1) に比べて上面発酵酵母である NCYC-229、NCYC-401、Weihenstephan-184、SH-387、SH-1059、SH-1726 は、硫化水素生成量が少なかった (図2)。従って、上面発酵酵母は発酵停止方による低アルコール麦芽飲料の製造に好適に用いることができることがわかった。

実施例2 L-メチオニン濃度の制御による硫化水素生成の低減

L-メチオニンの濃度が硫化水素生成の生成量及びサルファー臭に与える影響を検討した。

麦汁製造時に原料である麦芽と糖化スターチの使用比率を 60:40 として、パイロットスケールの醸造設備を用い、仕込のマッシング工程を 50℃-30 分、72℃-60 分のマッシング条件とし、糖度 10% の麦汁を調製した。得られた麦汁の L-メチオニン濃度を測定したところ、0.09mM であった。これに適当量の L-メチオニンを添加し、L-メチオニン濃度が 0.09mM、0.14mM、0.19mM、および 5.0 mM の4水準である糖液を各 70L 調製した。

それぞれに生菌数 10×10⁶cells/ml になるように酵母を添加した。酵母として、*Saccharomyces cerevisiae* の一種 (Weihenstephan-184 株) を用いた。温度 15℃ で約 1 日間発酵をおこなった。もろみを経時的に採取し、もろみ中の L-メチオニン濃度、硫化水素濃度を測定した。アルコール濃度約 1% の時点 (L-メチオニン濃度が 5.0 mM の試料ではアルコール濃度約 2.4% の時点) でもろみを約 0℃ 程度まで急冷することで発酵を停止させた。その後、ろ過により酵母を取り除き、瓶に充填した。

なお、糖液およびもろみ中の L-メチオニン濃度はイオン交換樹脂を用いて各ア

ミノ酸を分離し、恒温反応カラム中でニンヒドリン反応後、発色度を検出する 8800 形高速アミノ酸分析計（日立製）で測定した。

図 3～5 に各 L-メチオニン添加水準における L-メチオニン濃度の推移と硫化水素濃度の推移を示した。もろみ中の L-メチオニン濃度が低減した試料では硫化水素が生成した（図 3）。一方、L-メチオニン濃度が 0.14mM（図 4）または 0.19 mM（図 5）の試料では、硫化水素の生成量が抑制されていた。

また、サルファー臭についての官能評価を行った。アルコール濃度が約 1%の時点の試料について、専門パネリスト 5 名により評点法で行い、平均点を算出した。サルファー臭の評点は「感じない」= 0 点、「僅かに感じる」= 1 点、「感じる」= 2 点、の 3 段階とした。試料の温度を約 5℃とした。

結果を表 1 に示す。アルコール濃度が約 1%の時点の試料について、糖液の L-メチオニン濃度 0.09mM にて発酵させた試料では、サルファー臭を感じるという評価であった。一方、糖液の L-メチオニン濃度 0.14 または 0.19mM にて発酵させ、L-メチオニンの残留している試料では、サルファー臭は認められなかった。

また、糖液の L-メチオニン濃度 5.0mM の試料について、硫化水素濃度の推移を図 6 に示す。L-メチオニン濃度を 5.0mM まで高めた場合、アルコール濃度が 2%を超えた時点においても、硫化水素の生成量を抑制することができた。

この結果から、もろみ中に L-メチオニンが存在することで、酵母による硫酸イオンの取り込み、及び硫化水素生成を抑制することが確認された。

また、アルコール濃度が約 1%の時点で発酵を停止させる場合には、少なくとも 0.14mM 以上の L-メチオニン濃度の糖液を用いればよいことが判った。また、アルコール濃度が約 0.5%の時点で発酵を停止させる場合には、糖液の L-メチオニン濃度を 0.09mM 以上（図 3）とすればよいこと、及び、アルコール 2%の時点で発酵を停止させる場合には、糖液の L-メチオニン濃度を 5mM（図 6）とすればよいと考えられるなど、本発明の技術によれば、目標とするアルコール濃度によって、麦汁中の L-メチオニン濃度を適宜調製すれば、サルファー臭の臭いが抑制できることが判った。

表 1

糖液のメチオニン濃度(mM)	サルファー臭に関する官能評価点
0.09	1.8
0.14	0.4
0.19	0

実施例 3 遊離アミノ態窒素量の適正化による全ピシナル-ジケトン生成の低減

遊離アミノ態窒素量 (FAN 量) が全ピシナル-ジケトン (T-VDK) の生成量またはダイアセチル臭に与える影響を検討した。

麦汁製造時に原料である麦芽の使用量を変えて 4 種の糖液を調製した。すなわち、麦芽と糖化スターチの使用比率を、100 : 0、80 : 20、60 : 40、および 40 : 60% とした。パイロットスケールの醸造設備を用い、仕込のマッシング工程を 50℃ - 30 分、72℃ - 60 分の条件とし、糖度 10% の麦汁を調製し、遊離アミノ態窒素量 (FAN 量) が 25, 20, 15, 10 (mg/100ml) の 4 種類の麦汁を各 70L 作成得た。これを糖液とした。FAN 量は TNBS 法によって測定した (Methods of Analysis of the ASBC(1987), Method Beer-31)。

酵母として、上面発酵酵母 (SH-1726) および下面発酵酵母 (Weihenstephan-34) を用いた。

各糖液に各酵母を生菌数 10×10^6 cells/ml になるように添加し、温度 15℃ で約 1 日間発酵をおこなった。もろみを経時的に採取し、もろみ中の L-バリン濃度および T-VDK を測定した。アルコール濃度約 1% の時点でもろみを約 0℃ 程度まで急冷することで発酵を停止させた。その後、ろ過により酵母を取り除き、瓶に充填した。

図 7 に上面酵母 (SH-1726) を用いて各種 FAN 量の糖液で発酵させた場合のもろみの L-バリン濃度の推移を示した。いずれの試料でも経時的に L-バリン濃度が低下した。特に、FAN 量の低い糖液 (10mg/100ml) ではアルコール濃度が 1.0% の時に L-バリン濃度は 0.1mM 程度まで低下した。

また、各 FAN 量の糖液水準ごとに、アルコール濃度が約 1.0% 時点の試料について、全ピシナル-ジケトン濃度 (T-VDK 濃度) を測定および官能評価を行った。T-VDK 濃度は酵母を除去したもろみから直接蒸留して比色定量した (Methods of Analysis of the ASBC(1987), Method Beer-25A)。ダイアセチル臭についての官能評価は、専門パネリスト 5 名により評点法で行い、平均点を算出した。ダイアセチル臭臭の評点は「感じない」= 0 点、「僅かに感じる」= 1 点、「感じる」= 2 点、の 3 段階とした。試料の温度を約 5℃とした。

酵母 SH-1726 株の結果を表 2 に示す。糖液中の FAN 量が 15mg/100ml の場合、T-VDK の濃度は他の糖液水準に比較して低く、また、官能評価も良好であった。

表 2

糖液のFAN量 (mg/100ml)	T-VDK濃度 (ppm)	ダイアセチル臭に関する官能評価点
10	0.08	0.4
15	0.06	0.2
20	0.09	0.4
25	0.12	1.4

一方、糖液中の FAN 量が低い試料 (10mg/100ml) では、T-VDK の濃度は、FAN 量が 15mg/100ml の場合に比較してやや上昇したものの、官能評価は良好であった。L-バリンの酵母への取込が低下すると T-VDK の生成量が増大するが、当該糖液では、L-バリン濃度の低下に伴い、十分な取込ができなかったと思われる。ただし、T-VDK の閾値は、0.10ppm 程度であり、ダイアセチル臭の官能への影響は軽微であった。

更に、糖液中の FAN 量が高い試料 (20~25mg/100ml) でも、T-VDK の濃度は上昇した。このうち FAN 量が最も高い糖液 (25mg/100ml) では、官能評価の成績も悪かった。当該糖液では L-バリンは充分にあるものの、他のアミノ酸の存在により L-バリンの取込みが阻害されたと考えられる。特に FAN 量が 25mg/100ml の糖

液ではダイアセチル臭が官能に影響を与える程度に発生したと考えられる。

次に、下面発酵酵母である Weihenstephan-34 を用いた試験について、T-VDK の測定結果を表 3 に示す。

5 表 3

糖液のFAN量(mg/100ml)	T-VDK濃度(ppm)	ダイアセチル臭に関する官能評価点
10	0.41	1.4
15	0.45	1.8
20	0.50	1.8
25	0.52	2.0

10

15 T-VDK の値は、糖液中に含まれる FAN 量によって T-VDK の濃度によって、差が認めれた。すなわち、FAN 量が最も低い糖液 (10mg/100ml) で T-VDK の濃度が最も低く、FAN 量が最も高い糖液 (25mg/100ml) では、T-VDK の濃度が最も高かった。これは、他のアミノ酸の存在により L-バリンの取込みがより阻害されたと考えられる。

20 下面発酵酵母の本試験での T-VDK の濃度は、酵母 SH-1726 株に比べて高く、低アルコール発酵飲料の製造に用いるのは最適ではないものの、このように、FAN 値を制御することで T-VDK の生成量を制御できることがわかった。

25 このような結果から、L-バリンの不足による酵母の L-バリン生合成系が働くことなく、且つ、L-バリンの酵母への取込が阻害されないように、FAN 量を調整することで、T-VDK の生成量を抑制し、ダイアセチル臭を抑制できることが確認された。また、アルコール濃度が約 1% の時点までに発酵を停止させる場合には、適正な FAN 量は 10-20mg/100ml であることが判った。

このように、本発明の技術によれば、目標とするアルコール濃度によって、糖液を適正な FAN 量に調製して、ダイアセチル臭を抑制できることができる。

実施例 4 低アルコールビール製造

L-メチオニン濃度の調製の有無、および FAN 量の調整の有無により、低アルコールビールを製造した。

- 5 すなわち、糖液の FAN 量を調整せずに L-メチオニン濃度のみを調製した対照例 1、L-メチオニン濃度を調製せずに糖液の FAN 量を調整した対照例 2、および、糖液の L-メチオニン濃度と糖液の FAN 量のいずれをも調整した発明品 1、の 3 種の飲料を調製した。

- 10 パイロットスケールの醸造設備を用い、実施例 1 と同様の仕込条件で糖度 10% の麦汁を調整した。その際、FAN 量の調整は、麦汁製造時に原料である麦芽と糖化スターチの使用比率によって調整した。すなわち、麦芽と糖化スターチの使用比率を 100 : 0 (対照品 1) または 60 : 40 (対照品 2、及び発明品 1) とした。これらの FAN 量を測定したところ、対照品 1 では 25mg/100ml であったが、対照品 2 と発明品 1 では、至適濃度範囲である 15mg/100ml であった。FAN 量の測定は前述
15 の方法に準じた。

また、各麦汁の L-メチオニン濃度はそれぞれ、0.17 mM (対照品 1) および 0.10mM (対照品 2、及び発明品 1) であった。そこで、発明品 1 には L-メチオニンを添加して、L-メチオニン濃度を至適濃度範囲の範疇である 0.2mM に調整した。これらを糖液として、発酵を行った。L-メチオニン濃度の測定は前述の方法に従った。

- 20 各糖液に酵母 (SH-1726 株) を生菌数 10×10^6 cells/ml になるように添加し、温度 15℃ で約 1 日間発酵をおこなった後、低温貯酒、濾過による酵母除去を行い、アルコール含量 0.80~0.90% の低アルコールビールを製造し、瓶に充填した。

- 得られた 3 種の低アルコール飲料について、硫化水素濃度、T-VDK 濃度、サルファー臭、ダイアセチル臭および総合的な官能評価を行った。硫化水素濃度、T-VDK
25 濃度、サルファー臭およびダイアセチル臭の評価は前述の方法に従った。また、総合的な官能評価は、専門パネリスト 5 名により評点法で行い、平均点を算出した。評点は、「良い」= 5 点、「やや良い」= 4 点、「ふつう」= 3 点、「やや悪い」= 2 点、「悪い」= 1 点の 5 段階とした。

結果を表4に示す。糖液のFAN量を調整せずにL-メチオニン濃度のみを調製した対照例1では、T-VDK濃度が高く、ダイアセチル臭の評価が悪かった。また、L-メチオニン濃度を調製せずに糖液のFAN量を調整した対照例2では、硫化水素濃度が高く、サルファー臭の評価が悪かった。

表4

糖液での 値	糖液のメチオニン濃度(mM)	対照例1	対照例2	発明品1
	糖液のFAN量(mg/100ml)	0.17	0.1	0.2
飲料の 測定値	硫化水素濃度(ppb)	25	15	15
	T-VDK濃度(ppm)	15	82	0.3
飲料の 官能評価	総合評価	0.13	0.05	0.05
	サルファー臭	3.5	3	5.5
	ダイアセチル臭	0	2	0
		1.6	0.2	0

一方、糖液のL-メチオニン濃度および糖液のFAN量のいずれをも調整した発明品1では、硫化水素およびT-VDK濃度とも低かった。またサルファー臭およびダイアセチル臭の評価とも良好であった。また、飲料としての総合的な評価も良かったことから、本発明の技術は、発酵停止法による低アルコール麦芽飲料の製造に好適に用いることができることが判った。

実施例5 ビールの製造

L-メチオニン濃度およびFAN量の調整し、発酵停止方法によってアルコール濃度0.5%（発明品2）および2%（発明品3）のビールを製造した。

パイロットスケールの醸造設備を用い、実施例1と同様の仕込条件で糖度10%の麦汁を調整した。その際、FAN量の調整は、麦汁製造時に原料である麦芽と糖化スターチの使用比率によって調整した。すなわち、麦芽と糖化スターチの使用比率を60:40（発明品2、発明品3）とした。これらのFAN量を測定したところ、15mg/100ml（発明品2、発明品3）であった。

また、各麦汁のL-メチオニン濃度は0.10mg/100ml（発明品2、発明品3）であ

った。各麦汁にL-メチオニンを添加して、0.15mM(発明品 2) および 0.40mg/100ml(発明品 3) とした。これらを糖液として、発酵を行った。

各糖液に酵母 (SH-1726 株) を生菌数 10×10^6 cells/ml になるように添加し、温度 15℃ で約 1 ないし 2 日間発酵をおこなった後、低温貯酒、濾過による酵母除去を行い、アルコール含量 0.5% および 2% のビールを製造し、瓶に充填した。

いずれの発明品においても、サルファー臭、ダイアセチル臭ともに殆どなく、良好な香味を呈した。

産業上の利用可能性

- 10 本発明によれば、発酵停止法による発酵飲料の製造、特に低アルコール麦芽発酵飲料の製造で問題となるオフフレーバーの生成を抑え、香りの点ですぐれた麦芽発酵飲料の製造が可能となる。

請求の範囲

1. 発酵停止法による発酵飲料の製造方法において、糖液、またはもろみに
5 L-メチオニンを添加することを特徴とする、サルファー臭を低減した発酵飲料の製造方法。
2. 発酵停止法による発酵飲料の製造方法において、糖液のL-メチオニン濃度を0.09mM~5mMとする、サルファー臭を低減した発酵飲料の製造方法。
3. 該糖液を穀物原料から調製することを特徴とする、請求項2記載の発酵
10 飲料の製造方法。
4. 穀物原料が麦芽である、請求項3記載の発酵飲料の製造方法。
5. 発酵停止法による発酵飲料の製造方法において、発酵中にL-メチオニンを枯渇させないことを特徴とする、サルファー臭を低減した発酵飲料の製造方法。
6. 発酵停止法による発酵飲料の製造方法において、もろみのL-メチオニン
15 濃度が0.01mMより低い濃度になる前に発酵を停止させることを特徴とする、サルファー臭を低減した発酵飲料の製造方法。
7. アルコール濃度が2%以下である、請求項1ないし6記載の発酵飲料の製造方法。
8. アルコール濃度1%未満で発酵を停止させる発酵停止法による低アルコ
20 ールビール、または低アルコール発泡酒の製造方法において、糖液のL-メチオニン濃度が0.09mM~5mMである、サルファー臭を低減した低アルコールビールまたは低アルコール発泡酒の製造方法。
9. 発酵停止法による発酵飲料の製造方法において、糖液またはもろみの遊離アミノ態窒素量を制御することを特徴とする、ダイアセチル臭を低減した発酵
25 飲料の製造方法。
10. 糖液の遊離アミノ態窒素量を10mg/100ml~20mg/100mlとすることを特徴とする請求項9記載の製造法。
11. もろみの遊離アミノ態窒素量を、L-バリン濃度が0.1~10mMとなるように制御することを特徴とする、請求項9記載の製造方法。

1 2. 糖液の遊離アミノ態窒素量の調整を穀物原料の種類または使用比率、糖化工程の pH、温度または時間、および希釈率からなる群の、少なくとも一つを調整することで行うことを特徴とする、請求項 9 または 10 記載の製造法。

1 3. 穀物原料が麦芽である、請求項 1 2 記載の製造法。

5 1 4. アルコール濃度が 2% 以下である、請求項 9 ないし 1 3 記載の発酵飲料の製造方法。

1 5. アルコール濃度 1% 未満で発酵を停止させる発酵停止法による低アルコールビール、または低アルコール発泡酒の製造方法において、糖液の遊離アミノ態窒素量を 10mg/100ml ~ 20mg/100ml とすることを特徴とする、ダイアセチル臭を
10 低減した低アルコールビールの製造方法。

1 6. アルコール濃度 0.5% 以下で発酵を停止させる発酵停止法による低アルコールビール、または低アルコール発泡酒の製造方法において、糖液の遊離アミノ態窒素量を 2.5mg/100ml ~ 20mg/100ml とすることを特徴とする、ダイアセチル臭を低減した低アルコールビールの製造方法。

15 1 7. 発酵停止法による発酵飲料の製造方法において、糖液、またはもろみに L-メチオニンを添加し、さらに糖液またはもろみの遊離アミノ態窒素量を制御することを特徴とする、サルファー臭およびダイアセチル臭を低減した発酵飲料の製造方法。

1 8. 糖液の L-メチオニン濃度を 0.09mM ~ 5mM とし、さらに糖液の遊離アミノ態窒素量を 10mg/100ml ~ 20mg/100ml とすることを特徴とする、請求項 1 7 記載の
20 製造方法。

1 9. 糖液の L-メチオニン濃度を 0.09mM ~ 5mM とし、もろみの遊離アミノ態窒素量を L-バリン濃度が 0.1 ~ 10mM となるように制御することを特徴とする、請求項 1 7 記載の製造方法。

25 2 0. 糖液の L-メチオニン濃度を 0.09mM ~ 5mM とし、糖液の遊離アミノ態窒素量の調整を穀物原料の種類または使用量、マッシング工程の pH、温度または時間からなる群の、少なくとも一つを調整することで行うことを特徴とする、請求項 1 7 記載の製造方法。

2 1. 発酵飲料が低アルコール発酵飲料である、請求項 1 ないし 7、9 ないし

14、17ないし20のいずれか一項に記載の製造方法。

22. 低アルコール発酵飲料が低アルコールビール、低アルコール発泡酒であることを特徴とする請求項21記載の製造方法。

23. 更に酵母が硫酸イオンの取込能の低い酵母であることを特徴とする、

5 請求項1ないし22記載の製造方法。

24. 酵母が全ビシナル-ジケトン (T-VDK) 生産能の低い酵母であることを特徴とする、請求項1ないし22記載の製造方法。

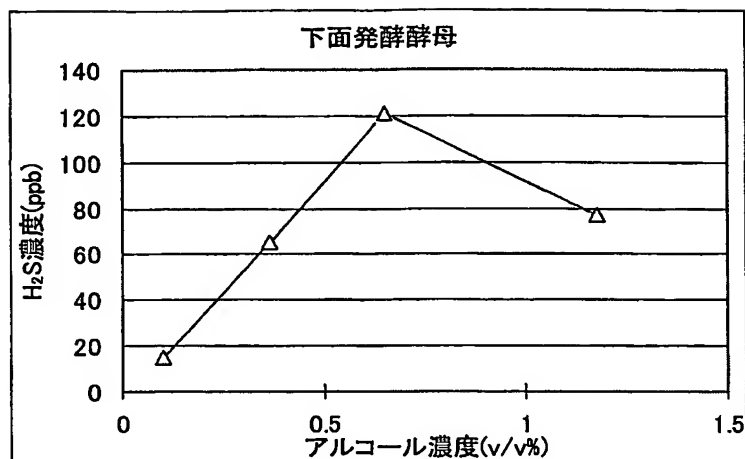
25. 酵母が上面発酵酵母である、請求項1ないし24記載の製造方法。

26. 酵母が *Saccharomyces cerevisia* 種である、請求項25記載の製造方

10 法。

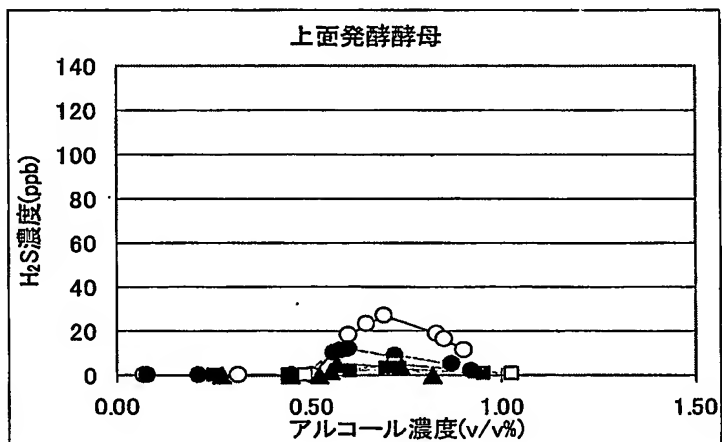
27. 請求項1ないし25記載の方法で得られるオフフレーバーを抑制した発酵飲料。

図 1



△ : Weihenstephan-34

図 2



□ : NCYC-229

△ : NCYC-401

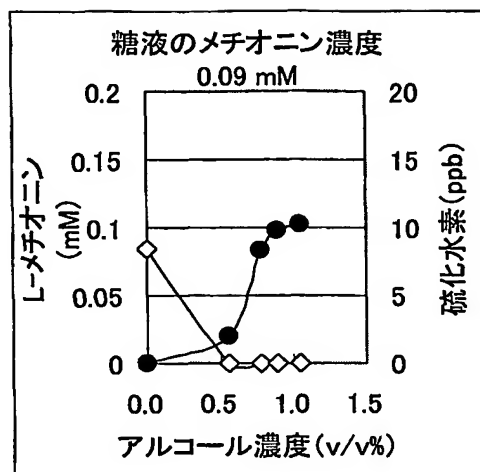
○ : Weihenstephan-184

■ : SH-1059

● : SH-1726

▲ : SH-387

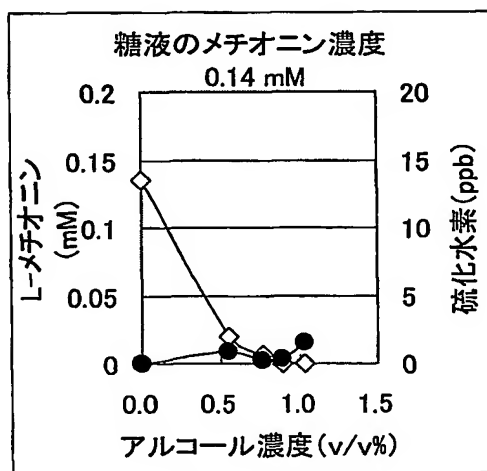
図 3



◇ : L-メチオニン濃度

● : 硫化水素濃度

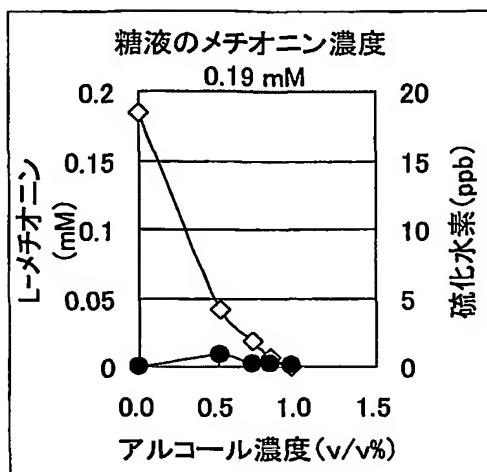
図 4



◇ : L-メチオニン濃度

● : 硫化水素濃度

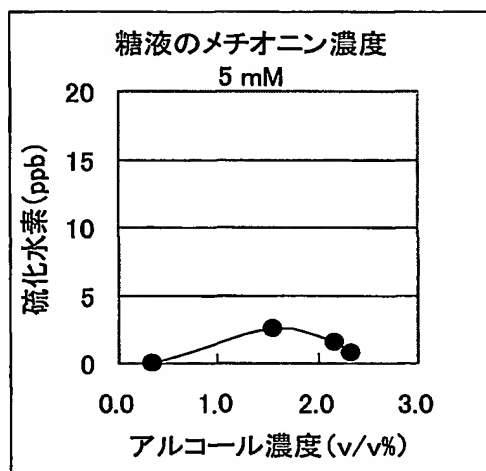
図 5



◇ : L-メチオニン濃度

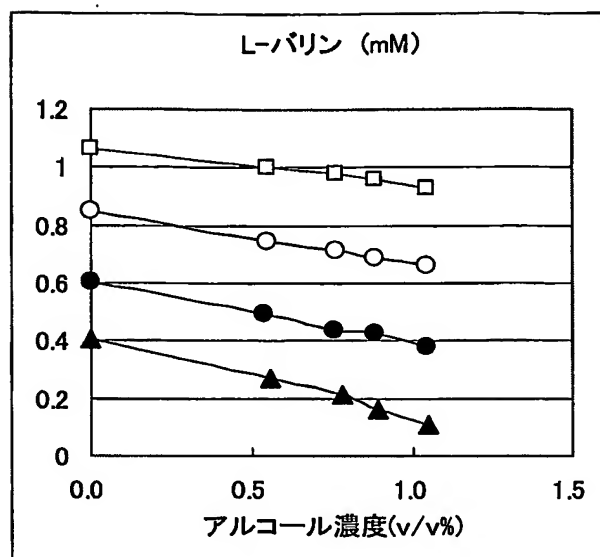
● : 硫化水素濃度

図 6



● : 硫化水素濃度

図 7



- ▲ : 麦汁 FAN 濃度 10 (mg/100ml)
● : 麦汁 FAN 濃度 15 (mg/100ml)
○ : 麦汁 FAN 濃度 20 (mg/100ml)
□ : 麦汁 FAN 濃度 25 (mg/100ml)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/14210

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl.⁷ C12C7/04, C12G3/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl.⁷ C12C7/04, C12G3/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPLUS (JOISEasy)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	JP 43-13670 B1 (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 10 June, 1968 (10.06.68), Page 1, right column, lines 14 to 15; Claims (Family: none)	1, 21-22 25-27 2-20, 23-24
X Y A	EP 0160442 A2 (KIRIN BEER KABUSHIKI KAISHA), 06 November, 1985 (06.11.85), Page 10, lines 14 to 15 & JP 61-58573 A & US 4698224 A & DE 3580611 C	9, 21-22 25-27 1-8, 10-20, 23-24
Y A	JP 10-179131 A (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 07 July, 1998 (07.07.98), Column 2, lines 44 to 50 (Family: none)	25-27 1-24

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier document but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
 "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
22 January, 2004 (22.01.04)

Date of mailing of the international search report
03 February, 2004 (03.02.04)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/14210

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	EP 228009 A2 (KIRIN BEER KABUSHIKI KAISHA), 08 July, 1987 (08.07.87), Page 7, lines 20 to 31 & DK 600186 A & ZA 8609393 A & JP 7-171 A & US 4895802 A & CA 1296276 A	25-27 1-24
Y A	EP 339532 A1 (KIRIN BEER KABUSHIKI KAISHA), 02 November, 1989 (02.11.89), Claim 2 & AU 3333389 A1 & JP 2-265488 A & US 5043276 A & CA 1302322 A & ES 2065351 T	25-27 1-24
Y A	EP 160442 A2 (KIRIN BEER KABUSHIKI KAISHA), 06 November, 1985 (06.11.85), Page 11, lines 24 to 32 & JP 60-214873 A & CN 85102975 A & US 4698224 A	25-27 1-24

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO3/14210

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl. ⁷ C12C7/04, C12G3/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl. ⁷ C12C7/04, C12G3/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
JSTPLUS (JOISEasy)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y A	JP 43-13670 B1 (武田薬品工業株式会社) 1968. 06.10, 第1頁右欄第14-15行、特許請求の範囲 (ファミ リーなし)	1, 21-22 25-27 2-20, 23-24
X Y A	EP 0160442 A2 (KIRIN BEER KABUSHIKI KAISHA) 19 85.11.06, 第10頁第14-15行 & JP 61-5 8573 A & US 4698224 A & DE 35806 11 C	9, 21-22 25-27 1-8, 10-20, 23-24

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

22.01.04

国際調査報告の発送日

03.2.2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

村上 騎見高

4C

8827

電話番号 03-3581-1101 内線 3402

C (続き). 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	JP 10-179131 A (協和醗酵工業株式会社) 1998. 07. 07, 第2欄第44-50行 (ファミリーなし)	25-27 1-24
Y A	EP 228009 A2 (KIRIN BEER KABUSHIKI KAISHA) 198 7. 07. 08, 第7頁第20-31行 & DK 600186 A & ZA 8609393 A & JP 7-171 A & US 4895802 A & CA 1296276 A	25-27 1-24
Y A	EP 339532 A1 (KIRIN BEER KABUSHIKI KAISHA) 198 9. 11. 02, 請求項2 & AU 3333389 A1 & JP 2-265488 A & US 5043276 A & C A 1302322 A & ES 2065351 T	25-27 1-24
Y A	EP 160442 A2 (KIRIN BEER KABUSHIKI KAISHA) 198 5. 11. 06, 第11頁第24-32行 & JP 60-21 4873 A & CN 85102975 A & US 4698 224 A	25-27 1-24